

日本国特許庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年 6月 9日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第162486号

出願人

Applicant(s):

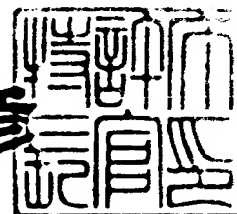
アマシャム ファルマシア バイオテック株式会社

PRIORITY
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 3月 3日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近藤隆彦



出証番号 出証特2000-3011666

【書類名】 特許願

【整理番号】 991145

【提出日】 平成11年 6月 9日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C08F

【発明者】

【住所又は居所】 東京都品川区戸越 1-15-18

【氏名】 秋山 義勝

【発明者】

【住所又は居所】 東京都台東区三ノ輪 1-18-9 203号

【氏名】 吉廻 公博

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県市川市中国分 5-9-11

【氏名】 長谷川 幸雄

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県市川市国府台 6-12-12

【氏名】 岡野 光夫

【特許出願人】

【識別番号】 597145779

【氏名又は名称】 アマシャム ファルマシア バイオテック株式会社

【代理人】

【識別番号】 100089705

【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル2
06区 ユアサハラ法律特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 社本 一夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100071124

【弁理士】

【氏名又は名称】 今井 庄亮

【選任した代理人】

【識別番号】 100076691

【弁理士】

【氏名又は名称】 増井 忠武

【選任した代理人】

【識別番号】 100075236

【弁理士】

【氏名又は名称】 栗田 忠彦

【選任した代理人】

【識別番号】 100075270

【弁理士】

【氏名又は名称】 小林 泰

【選任した代理人】

【識別番号】 100096013

【弁理士】

【氏名又は名称】 富田 博行

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

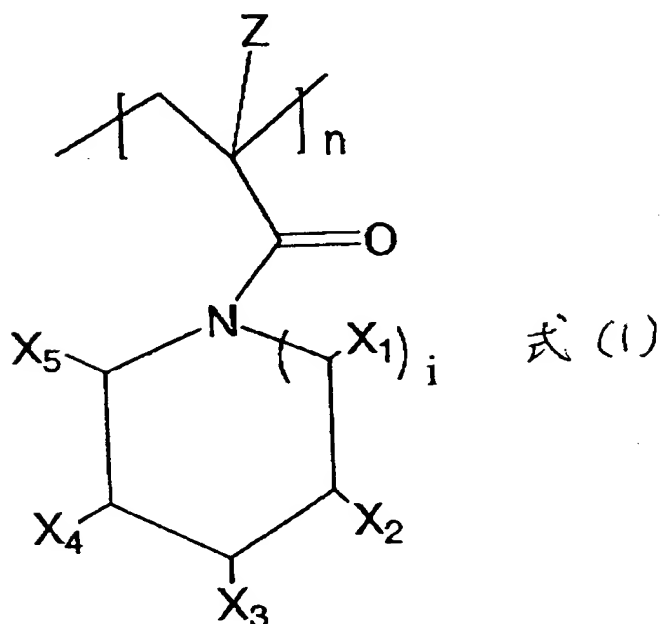
【書類名】 明細書

【発明の名称】 温度応答性を有する高分子化合物およびその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下式

【化 1】



(式中、Z はメチル基もしくは水素原子を示す、n は 2 以上の整数を示す、 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 は同一もしくは異なって、水素原子、基 R または基 $-CO-NH-R$ を示し、 $X_1 \sim X_5$ のうち最低 1 つは基 $-CO-NH-R$ である (R は炭素数 1 ～ 6 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 1 ～ 10 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 1 ～ 10 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 3 ～ 10 の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 3 ～ 10 の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す)。i は 0 ～ 6 のいずれかの整数を示す。) で表される繰り返し単位を含む高分子化合物。

【請求項 2】 高分子鎖末端にカルボキシ基、水酸基、アミノ基、ニトリル基、炭素数 1 ～ 20 の直鎖もしくは分岐のアルキル基、シアノ基などの官能基を有する請求項 1 記載の高分子化合物。

【請求項3】架橋材を用いて合成される、請求項1または2記載の構造を含む高分子ゲル。

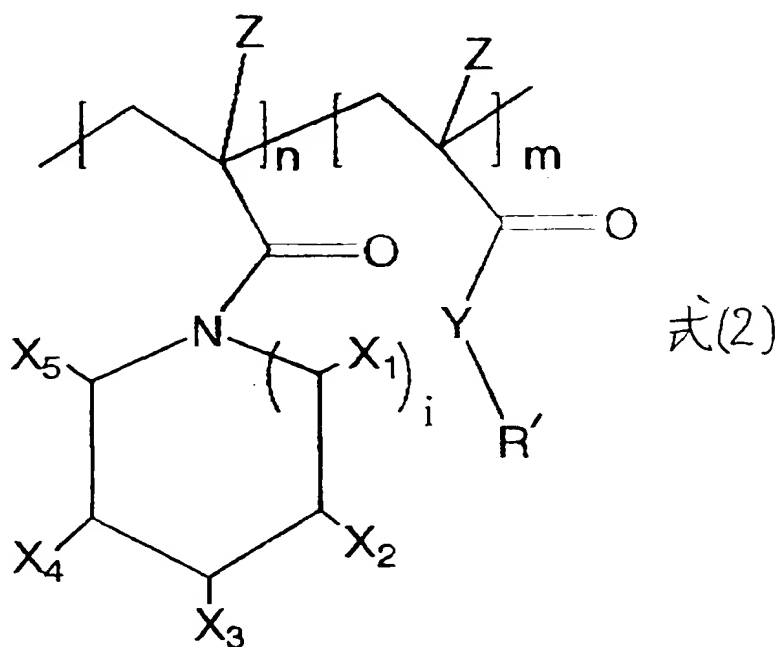
【請求項4】下限臨界温度もしくは上限臨界温度またはその両方を水溶液系中で示す請求項1、2および3のいずれか1項記載の高分子化合物。

【請求項5】上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点を堺にして親水性、疎水性の極性あるいは水素結合性能が水溶液系中で変化する請求項1、2、3および4のいずれか1項記載の高分子化合物。

【請求項6】上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点の水溶液系中、Rの側鎖の大きさ、塩濃度、pH濃度、高分子の濃度、高分子の密度、有機溶媒の濃度、および高分子の分子量で制御できる請求項1、2、3および4のいずれか1項記載の高分子化合物。

【請求項7】下式

【化2】



(式中、 n 、 m は $n+m=1$ 、0となるような任意の数値を示す。 Z はメチル基もしくは水素原子を示す。 n は2以上の整数を示す。 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 は同一もしくは異なって、水素原子、基Rまたは基 $-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}$ を示し、 $X_1 \sim X_5$ のうち最低1つは基 $-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}$ である(Rは炭素数1~6の直鎖ま

たは分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 1～10 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 1～10 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 3～10 の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 3～10 の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す)。i は 0～6 のいずれかの整数を示す。Y は酸素原子もしくは窒素原子を示す。R' は炭素数 1～6 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 1～10 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 1～10 の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 3～10 の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 3～10 の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す。) で表される繰り返し単位を含む高分子化合物。

【請求項 8】請求項 1 の繰り返し単位と他種の重合性単量体により合成できる請求項 7 記載の高分子化合物。

【請求項 9】高分子鎖末端にカルボキシル基、水酸基、アミノ基、ニトリル基、炭素数 1～20 の直鎖もしくは分岐のアルキル基、シアノ基などの官能基を有する請求項 7 または 8 記載の高分子化合物。

【請求項 10】架橋材を用いて合成される、請求項 7、8 および 9 のいずれか 1 項記載の構造を含む高分子ゲル。

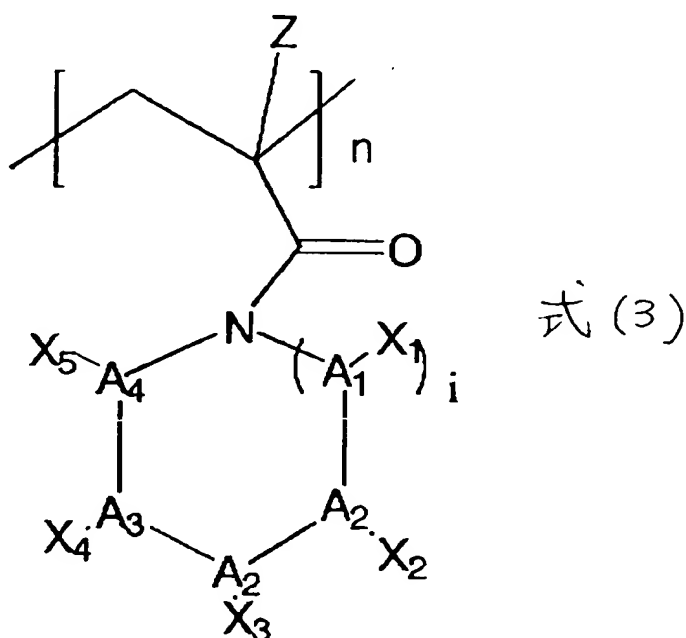
【請求項 11】下限臨界温度もしくは上限臨界温度またはその両方を水溶液系中で示す請求項 7、8、9 および 10 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 12】上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点を堺にして親水性、疎水性の極性あるいは水素結合性能が水溶液系中で変化する請求項 7、8、9、10 および 11 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 13】上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点が水溶液系中、R の側鎖の大きさ、塩濃度、pH 濃度、高分子の濃度、高分子の密度、有機溶媒の濃度、ホモポリマーもしくは他種の重合性単量体との共重合体の組成、および高分子の分子量で制御できる請求項 7、8、9、10 および 11 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 14】下式

【化 3】



(式中、Zはメチル基もしくは水素原子を示す。nは2以上の整数を示す。X₁、X₂、X₃、X₄、X₅は同一もしくは異なって、水素原子、基Rまたは基-CO-NH-Rを示し、X₁~X₅のうち最低1つは基-CO-NH-Rである(Rは炭素数1~6の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数1~10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数1~10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数3~10の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数3~10の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す)。A₁、A₂、A₃、A₄、A₅は同一もしくは異なって、炭素原子または基-CO-NH-Rもしくは-CO-Rを有するX_n(nは1~5のいずれかの整数を示す)と結合する窒素原子を示し、A₁~A₅のうち最低1つは基-CO-NH-Rもしくは-CO-Rを有するX_n(nは1~5の整数を示す)と結合する窒素原子である(Rは前記と同じ意味を表す)。iは0~6のいずれかの整数を示す。)で表される繰り返し単位を含む高分子化合物。

【請求項15】 高分子鎖末端にカルボキシル基、水酸基、アミノ基、ニトリル基、炭素数1~20の直鎖もしくは分岐のアルキル基、シアノ基などの官能基

を有する請求項 1 4 記載の高分子化合物。

【請求項 16】 架橋材を用いて合成される、請求項 14 または 15 記載の構造を含む高分子ゲル。

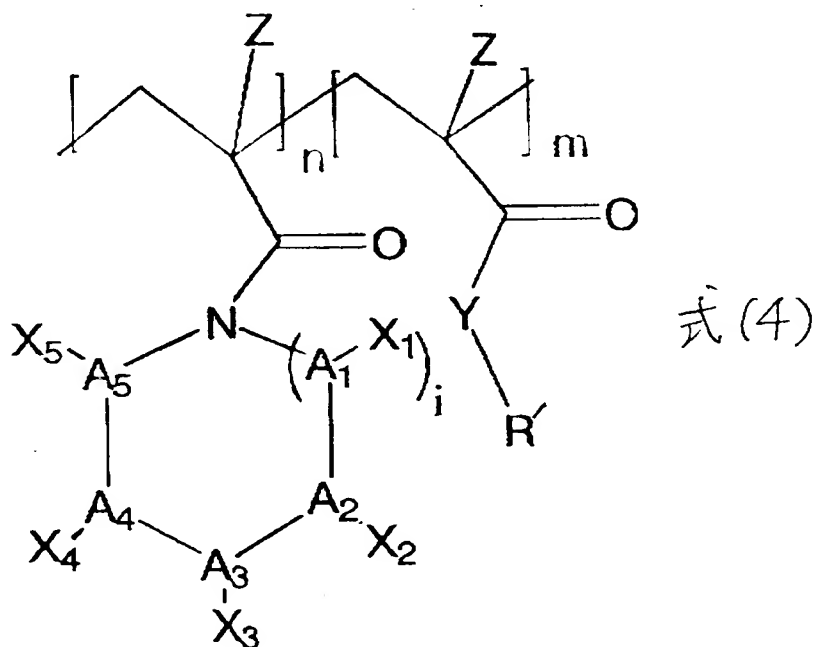
【請求項 17】 下限臨界温度もしくは上限臨界温度またはその両方を水溶液系中で示す請求項 14、15 または 16 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 18】 上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点を堺にして親水性、疎水性の極性あるいは水素結合性能が水溶液系中で変化する請求項 14、15、16 または 17 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 19】 上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点の水溶液系中、R の側鎖の大きさ、塩濃度、pH 濃度、高分子の濃度、高分子の密度、有機溶媒の濃度、ホモポリマーもしくは他種の重合性単量体との共重合体の組成、および高分子の分子量で制御できる請求項 14、15、16 または 17 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 20】 下式

【化4】



(式中、 n 、 m は $n + m = 1$ 、0となるような任意の数値を示す。 Z はメチル基もしくは水素原子を示す。 n は2以上の整数を示す。 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5

は同一もしくは異なって、水素原子、基Rまたは基 -CO-NH-R を示し、 $X_1 \sim X_5$ のうち最低1つは基 -CO-NH-R である（Rは炭素数1～6の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数1～10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数1～10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数3～10の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数3～10の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す）。 A_1 、 A_2 、 A_3 、 A_4 、 A_5 は同一もしくは異なって、炭素原子または基 -CO-NH-R あるいは基 -CO-R を有する X_n （ n は1～5のいずれかの整数を示す）と結合する窒素原子を示し、 $A_1 \sim A_5$ のうち最低1つは基 -CO-NH-R あるいは基 -CO-R を有する X_n （ n は1～5のいずれかの整数を示す）と結合する窒素原子である（Rは前記と同じ意味を表す）。 i は0～6のいずれかの整数を示す。 Y は酸素原子もしくは窒素原子を示す。 R' は炭素数1～6の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数1～10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数1～10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数3～10の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数3～10の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す。）で表される繰り返し単位を含む高分子化合物。

【請求項21】請求項1の繰り返し単位と他種の重合性単量体により合成できる請求項20記載の高分子化合物。

【請求項22】高分子鎖末端にカルボキシル基、水酸基、アミノ基、ニトリル基、炭素数1～20の直鎖もしくは分岐のアルキル基、シアノ基などの官能基を有する請求項20または21記載の高分子化合物。

【請求項23】架橋材を用いて合成される、請求項20、21、または22のいずれか1項記載の構造を含む高分子ゲル。

【請求項24】下限臨界温度もしくは上限臨界温度またはその両方を水溶液系中で示す請求項20、21、22および23のいずれか1項記載の高分子化合物。

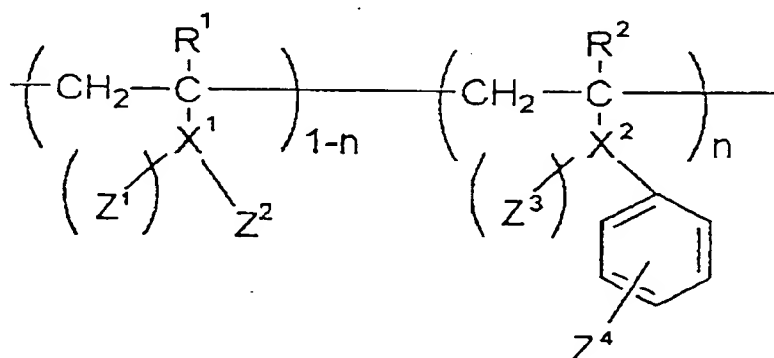
【請求項25】上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点を堺にして

親水性、疎水性の極性あるいは水素結合性能が水溶液系中で変化する請求項 22、21、22、23 および 24 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 26】 上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点の水溶液系中、R の側鎖の大きさ、塩濃度、pH 濃度、高分子の濃度、高分子の密度、有機溶媒の濃度、ホモポリマーもしくは他種の重合性単量体との共重合体の組成、および高分子の分子量で制御できる請求項 22、21、22、23 および 24 のいずれか 1 項記載の高分子化合物。

【請求項 27】 溶液中の塩濃度を变化させることで、温度応答性を制御することを特徴とする下式

【化 5】



(式中、n は 0.005 ≤ n ≤ 0.995 の範囲に含まれる任意の数値を示す。R¹ および R² は、同一または異なって、水素原子またはメチル基を示す。X¹ および X² は、同一または異なって、2 級または 3 級のアミド基、エステル基を示す。Z¹、Z² または Z³ は、同一または異なって、水素原子、炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基、1 個または 2 個以上の水酸基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基、1 個または 2 個以上のエーテル基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基、炭素数 3～12 の配糖体または炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基を有する炭素数 3～12 の配糖体を示す。Z¹ または Z³ は、X¹ または X² が 3 級アミドのときに有する官能基である。Z⁴ は水素原子、水酸基、アミド基、1 個または 2 個以上のアミド基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基、1 個または 2 個以上のカルボニル基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基、1 個または 2 個以上の水酸基

を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基を示し、オルト、メタ、パラ位のいずれでもよい。) で表される繰り返し単位を含む重合体および該重合体を含む架橋物よりなる群から選択される温度応答性高分子化合物。

【請求項 28】生体分子、生体試料、物質を温度変化により吸着、放出もしくは分離することのできる、請求項 1～27 のいずれか 1 項記載の高分子材料を用いることを特徴とする、物質の吸着、分離、回収、放出材料。

【請求項 29】請求項 28 に記載された高分子材料をクロマトグラフィー用充填材に固定化し、固定相に物質を保持させた後、外部温度を段階的に変化させる温度グラディエント法により固定相表面の疎水性、親水性もしくは水素結合性の大きさのバランスを変化させ、同一の移動相を通過させることによって物質を分離することを特徴とする物質の分離方法。

【請求項 30】アクリル酸クロライド、メタクリル酸クロライド、アクリル酸無水物あるいはメタクリル酸無水物とアミド基を有するような環状の 2 級アミン化合物とを反応させることにより合成する請求項 1 に記載の単量体の製造方法。

【請求項 31】アクリル酸クロライド、メタクリル酸クロライド、アクリル酸無水物あるいはメタクリル酸無水物と一カ所以上のアシル結合を有する 2 級アミンのような化合物とを反応させることにより合成する請求項 14 に記載の単量体の製造方法。

【請求項 32】請求項 1 に記載された単量体を重合溶媒中に場合によっては重合開始剤と共に加え、光もしくは重合開始剤からラジカルが発生する温度により重合させて得られる請求項 1 記載の高分子化合物の製造方法。

【請求項 33】請求項 7 に記載された単量体を重合溶媒中に場合によっては重合開始剤と共に加え、光もしくは重合開始剤からラジカルが発生する温度により重合させて得られる請求項 7 記載の高分子化合物の製造方法。

【請求項 34】請求項 14 に記載された単量体を重合溶媒中に場合によっては重合開始剤と共に加え、光もしくは重合開始剤からラジカルが発生する温度により重合させて得られる請求項 14 記載の高分子化合物の製造方法。

【請求項 35】請求項 20 に記載された単量体を重合溶媒中に場合によって

は重合開始剤と共に加え、光もしくは重合開始剤からラジカルが発生する温度により重合させて得られる請求項 20 記載の高分子化合物の製造方法。

【請求項 36】 請求項 27 に記載された単量体を重合溶媒中に場合によっては重合開始剤と共に加え、光もしくは重合開始剤からラジカルが発生する温度により重合させて得られる請求項 14 記載の高分子化合物の製造方法。

【請求項 37】 請求項 27 に記載された単量体を重合溶媒中に場合によっては重合開始剤と共に加え、光もしくは重合開始剤からラジカルが発生する温度により重合させて得られる請求項 20 記載の高分子化合物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、温度による材料の極性および水素結合性能を変化、制御できる温度応答性高分子に関する。また、本発明は、温度による極性および水素結合性能の変化を利用した吸着・分離材料、物質放出材料、生体機能に利用することのできる温度応答性高分子化合物に関する。さらに、本発明はこれらの温度応答性高分子化合物を用いることを特徴とする物質の吸着、分離、回収、放出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

温度、pH、光などの刺激に対して構造が変化する化合物は、その構造変化により体積、あるいは、親水性、疎水性のような極性が変化する。温度応答性高分子として代表的なものとして、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）が知られている。この高分子は水溶液中において、低温側で溶解し高温側で析出する現象、下限臨界温度（LCST）を示す。また、その逆に、ポリ（ジメチルアクリルアミド）とポリ（アクリル酸）の混合溶液系では、2 種の高分子が高温側で溶解し、低温側で、2 種の高分子で複合体を形成し析出する現象、上限臨界温度（UCST）を示すことが知られている。しかしながら、LCST を有するアルキルアクリルアミド系のポリマーでは疎水性が小さく、疎水性を出すために高温条件で分離を行わなければならない、生体成分の分離、吸着、放出において不利な条

件となる。

【0003】

また、UCSTを有するようなポリマーでは、このような2種類の異なるポリマーが複合化しなければならないため、塩の混入、pHの増加によりUCSTを消失してしまうため、生体成分の分離、吸着、放出条件に大きな制約がでてきてしまう。

【0004】

このような背景から、UCSTおよびLCSTの発現を制御でき、また、その性質が塩を含むような環境下でも発現することができ、生体成分を始めとする物質分離が行える疎水性を有するポリマーの開発が求められている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、上記のような現状に鑑み、水素結合性および疎水性を利用し、生体成分をはじめとする物質と相互作用するような性質を有する、塩を含むような水溶液中でもLCSTあるいはUCSTを示すような材料を提供し、さらにはかかる高分子を用いたクロマトグラフィーなどの分離担体を始めとする、新規な分離、吸着、放出材を提供することである。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、鋭意研究の結果、単量体に水素結合性の官能基および疎水性を導入し重合するか、あるいは当該単量体と他種の単重体とを共重合することにより、温度応答性を制御できる温度応答性高分子化合物を合成できることを見出した。また、本発明者は、かかる温度応答性高分子化合物を含む吸着・分離材料を利用することで、様々な物質の分離へ応用ができることを見出した。本発明はかかる知見に基づいて完成したものである。

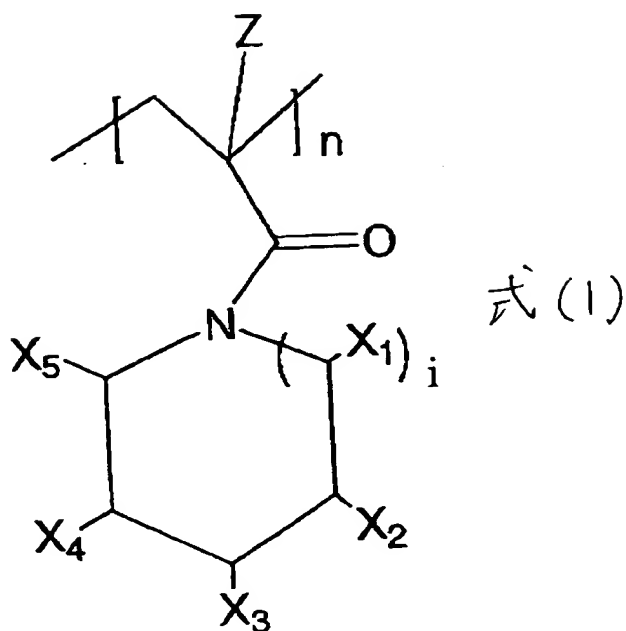
【0007】

【課題を解決するための手段】

すなわち、本発明は、下式

【0008】

【化 6】



【0009】

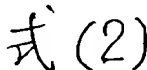
(式中、Zはメチル基もしくは水素原子を示す。nは2以上の整数を示す。X₁、X₂、X₃、X₄、X₅は同一もしくは異なって、水素原子、基Rまたは基-CO-NH-Rを示し、X₁~X₅のうち最低1つは基-CO-NH-Rである(Rは炭素数1~6の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数1~10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数1~10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数3~10の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数3~10の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す)。iは0~6のいずれかの整数を示す。)で表される繰り返し単位を含む高分子化合物に関する。

【0010】

また、本発明は、下式

【0011】

【化 7】



【 0 0 1 2 】

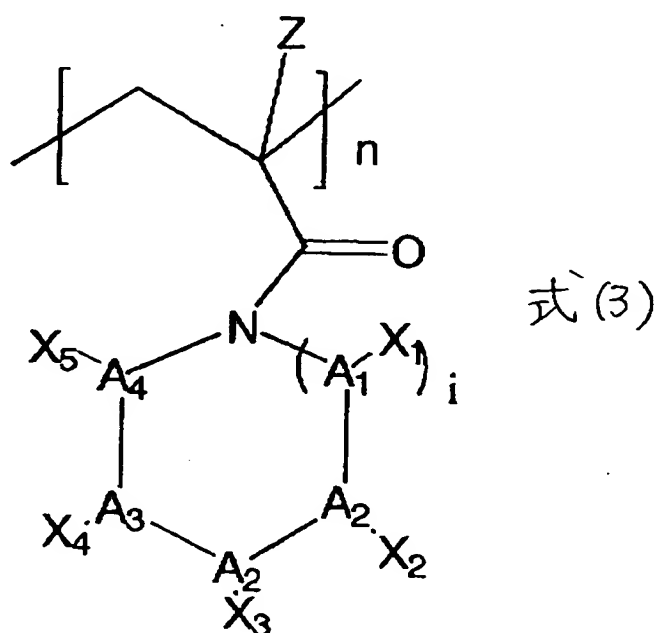
(式中、 n 、 m は $n+m=1$ 、 0 となるような任意の数値を示す。 Z はメチル基もしくは水素原子を示す。 n は 2 以上の整数を示す。 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 は同一もしくは異なって、水素原子、基 R または基 $-CO-NH-R$ を示し、 $X_1 \sim X_5$ のうち最低 1 つは基 $-CO-NH-R$ である(R は炭素数 $1 \sim 6$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 $1 \sim 10$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 $1 \sim 10$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 $3 \sim 10$ の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 $3 \sim 10$ の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す)。 i は $0 \sim 6$ のいずれかの整数を示す。 Y は酸素原子もしくは窒素原子を示す。 R' は炭素数 $1 \sim 6$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 $1 \sim 10$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 $1 \sim 10$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 $3 \sim 10$ の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 $3 \sim 10$ の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す。)で表される繰り返し単位を含む高分子化合物に関する。

【0013】

さらに、本発明は、下式

【0014】

【化8】



【0015】

(式中、Zはメチル基もしくは水素原子を示す。nは2以上の整数を示す。X₁、X₂、X₃、X₄、X₅は同一もしくは異なって、水素原子、基Rまたは基-CO-NH-Rを示し、X₁~X₅のうち最低1つは基-CO-NH-Rである(Rは炭素数1~6の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数1~10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数1~10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数3~10の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数3~10の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す)。A₁、A₂、A₃、A₄、A₅は同一もしくは異なって、炭素原子または基-CO-NH-Rもしくは-CO-Rを有するX_n(nは1~5のいずれかの整数を示す)と結合する窒素原子を示し、A₁~A₅のうち最低1つは基-CO-NH-Rもしくは-CO-Rを有するX_n(nは1~5の整数を示す)と結合する窒素原子である(Rは前記と同じ意

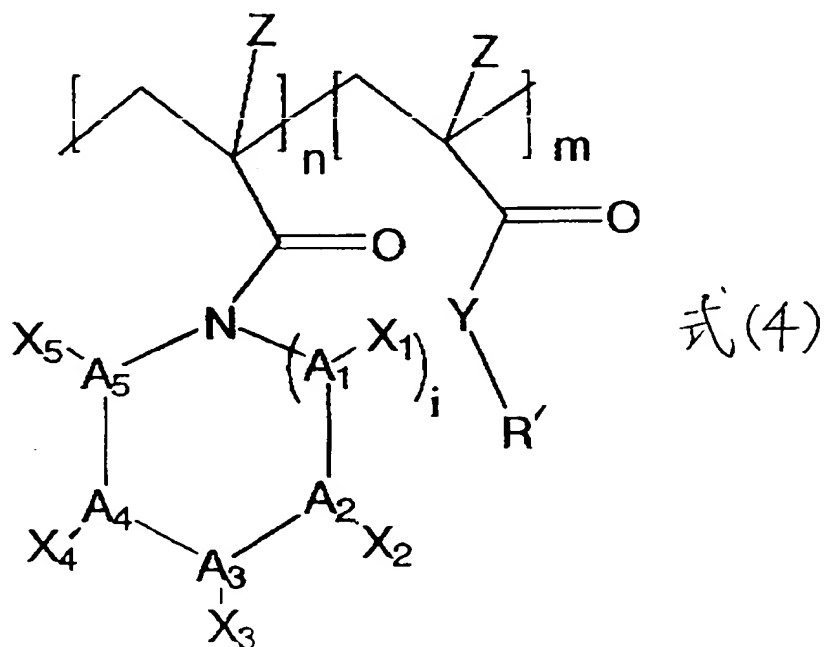
味を表す)。i は 0 ～ 6 のいずれかの整数を示す。) で表される繰り返し単位を含む高分子化合物に関する。

【 0 0 1 6 】

さらに加えて、本発明は、下式

【0 0 1 7】

【化9】



【 0 0 1 8 】

(式中、 n 、 m は $n + m = 1$ 、 0 となるような任意の数値を示す。 Z はメチル基もしくは水素原子を示す。 n は 2 以上の整数を示す。 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 は同一もしくは異なって、水素原子、基 R または基 $-CO-NH-R$ を示し、 $X_1 \sim X_5$ のうち最低 1 つは基 $-CO-NH-R$ である(R は炭素数 $1 \sim 6$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 $1 \sim 10$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 $1 \sim 10$ の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数 $3 \sim 10$ の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数 $3 \sim 10$ の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す)。 A_1 、 A_2 、 A_3 、 A_4 、 A_5 は同一もしくは異なって、炭素原子または基 $-CO-NH-R$ あるいは基 $-CO-R$ を有する X_n (n

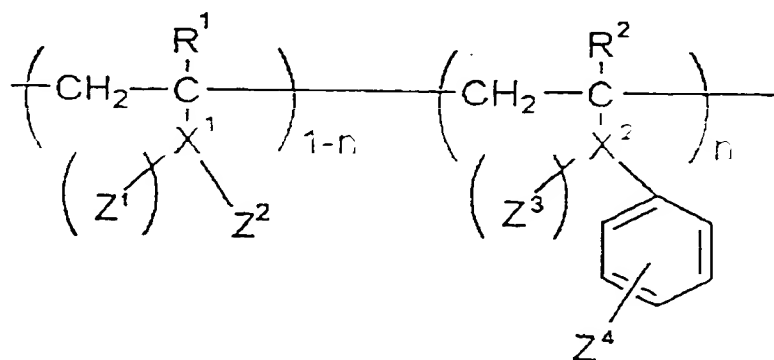
は1～5のいずれかの整数を示す)と結合する窒素原子を示し、 $A_1 \sim A_5$ のうち最低1つは基 $-CO-NH-R$ あるいは基 $-CO-R$ を有する X_n (n は1～5のいずれかの整数を示す)と結合する窒素原子である (R は前記と同じ意味を表す)。 i は0～6のいずれかの整数を示す。 Y は酸素原子もしくは窒素原子を示す。 R' は炭素数1～6の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数1～10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数1～10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数3～10の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数3～10の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す。) で表される繰り返し単位を含む高分子化合物に関する。

【0019】

加えて、本発明は、溶液中の塩濃度を変化させることで、温度応答性を制御することを特徴とする下式

【0020】

【化10】



【0021】

(式中、 n は0.005 $\leq n \leq$ 0.995の範囲に含まれる任意の数値を示す。 R^1 および R^2 は、同一または異なって、水素原子またはメチル基を示す。 X^1 および X^2 は、同一または異なって、2級または3級のアミド基、エステル基を示す。 Z^1 、 Z^2 または Z^3 は、同一または異なって、水素原子、炭素数1～8の直鎖または分岐の炭化水素基、1個または2個以上の水酸基を有する炭素数1～8の直鎖または分岐の炭化水素基、1個または2個以上のエーテル基を有する炭素

数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基、炭素数 3～12 の配糖体または炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基を有する炭素数 3～12 の配糖体を示す。 Z^1 または Z^3 は、 X^1 または X^2 が 3 級アミドのときに有する官能基である。 Z^4 は水素原子、水酸基、アミド基、1 個または 2 個以上のアミド基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基、1 個または 2 個以上のカルボニル基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基、1 個または 2 個以上の水酸基を有する炭素数 1～8 の直鎖または分岐の炭化水素基を示し、オルト、メタ、パラ位のいずれでもよい。) で表される繰り返し単位を含む重合体および該重合体を含む架橋物よりなる群から選択される温度応答性高分子化合物に関する。

【0022】

さらにまた、本発明は、上限臨界温度もしくは下限臨界温度のような曇点在水溶液系中、R の側鎖の大きさ、塩濃度、pH 濃度、高分子の濃度、高分子の密度、有機溶媒の濃度、高分子の分子量および水溶液中でホモポリマーもしくは他種の重合性単量体との共重合体の組成で制御できる温度応答性高分子化合物に関する。

【0023】

さらに、本発明は、上記温度応答性高分子化合物を含むことを特徴とする物質の分離・吸着・放出材料に関する。

加えて、本発明は、前記本発明の高分子化合物のいずれかの材料をクロマトグラフィー用充填材に固定化し、固定相に物質を保持させた後、外部温度を段階的に変化させる温度グラディエント法により固定相表面の疎水性、親水性もしくは水素結合性の大きさのバランスを変化させ、同一の移動相を通過させることによって物質を分離することを特徴とする物質の分離方法に関する。

【0024】

また、本発明は、アクリル酸クロライド、メタクリル酸クロライド、アクリル酸無水物あるいはメタクリル酸無水物とアミド基を有する環状の 2 級アミン化合物とを反応させることにより合成する式 (1) で表される単量体の製造方法に関する。

【0025】

さらに、本発明は、アクリル酸クロライド、メタクリル酸クロライド、アクリル酸無水物あるいはメタクリル酸無水物と一カ所以上のアシル結合を有する2級アミン化合物とを反応させることにより合成する式(3)で表される単量体の製造方法に関する。

【0026】

さらに加えて、本発明は、式(1)～(4)で表される各単量体を重合溶媒中に場合によっては重合開始剤と共に加え、光もしくは重合開始剤からラジカルが発生する温度により重合させて得られる高分子化合物の製造方法に関する。

【0027】

【発明の実施の形態】

本発明において、炭素数1～6の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素とは、炭素数1～6の直鎖または分岐のアルキル基、炭素数1～6の直鎖または分岐のアルケニル基または炭素数1～6の直鎖または分岐のアルキニル基を意味する。特にアルキル基が好ましく、その中でも、メチル基、エチル基、n-プロピル基、i-プロピル基、n-ブチル基、i-ブチル基、s-ブチル基、t-ブチル基、n-ペンチル基、n-ヘキシル基などを好ましい基として示すことができる。

【0028】

本発明において一つ以上のアミド結合を含む炭素数1～10の脂肪族炭化水素基とは、炭素数1～10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基における任意の位置に一個以上のアミド基を組み込んだ脂肪族炭化水素基を意味する。

【0029】

本発明において一つ以上の水酸基を含む炭素数1～10の脂肪族炭化水素基とは、炭素数1～10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基における任意の位置に一個以上の水酸基を組み込んだ脂肪族炭化水素基を意味する。好ましい基としてはヒドロキシメチル基、2-ヒドロキシエチル基、3-ヒドロキシプロピル基、2-ヒドロキシ、i-プロピル基、4-ヒドロキシブチル基、5-ヒドロキシペンチル基、6-ヒドロキシヘキシル基、5, 7-ジヒドロキシブチル基、6, 8-ジヒドロキシオクチル基、5, 9-ジヒドロキシノニル基、5, 7, 10-トリヒドロキシデシル基などを示すことができる。

【0030】

本発明において、一つ以上の水酸基を含む炭素数 3～10 の脂環式炭化水素基とは、炭素数 3～10 のヒドロキシシクロアルキル基を示す。好ましいヒドロキシシクロアルキル基としては、4-ヒドロキシシクロヘキシル基、1-メチル-4-ヒドロキシシクロヘキシル基、2-ヒドロキシシクロプロピル基、3, 5-ジヒドロキシシクロオクチル基などを示すことができる。

【0031】

本発明において、一つ以上のアミド結合を含み炭素数 3～10 の脂環式炭化水素基とは、炭素数 3～10 の脂環式炭化水素基中の任意の位置に一つ以上のアミド基を有する脂環式炭化水素基を意味する。

【0032】

本発明において、式 (1) で表される単量体を合成するに際して用いることができるアミド基を有するような環状の 2 級アミンの化合物とは、炭素数 5～30 を有しアミド結合を一カ所以上有する環状の 2 級アミン化合物、もしくは炭素数 5～30 を有し水酸基およびアミド結合を一カ所以上有する環状の 2 級アミン化合物であり、好ましい化合物としては、例えば、4-ピペリジンカルボキシアミド、N-メチル-4-ピペリジンカルボキシアミド、N-4-ヒドロキシブチル-4-ピペリジンカルボキシアミド、N-ブチル-4-ピペリジンカルボキシアミド、2-ピペリジンカルボキシアミド、N-メチル-2-ピペリジンカルボキシアミド、N, N'-ジメチル-2, 4-ピペリジンカルボキシアミドなどが挙げられる。

【0033】

本発明において、式 (3) で表される単量体を合成するに際して用いることができる一カ所以上のアシル結合を有する環状の 2 級アミン化合物とは、炭素数 5～30 を有し、一カ所以上のアシル結合を有する環状の 2 級アミン化合物であり、好ましい化合物としては、例えば、1-アセチルピペラジン、1-プロピオニルピペラジン、1-イソブチリルピペラジン、1-ヒドロキシブチルピペラジン、1-バレリルピペラジン、1-ヒドロキシバレリルピペラジンなどを挙げることができる。

【 0 0 3 4 】

本発明の高分子化合物は次のように製造される。高分子化合物の原料となる 1 種類もしくは 2 種類以上の単量体と重合開始剤を重合溶媒に溶解して、加熱などにより重合反応を開始する。この時、かかる高分子化合物を含む架橋物を得るために、2 官能性の単量体（架橋剤）を溶解しても良い。さらにこの時、かかる高分子化合物の分子量を調整するため、あるいはかかる高分子化合物の末端に反応性官能基を導入するために、連鎖移動剤を重合溶媒に溶解させても良い。重合反応後はかかる高分子化合物を溶解しない溶媒中で再沈殿させることで、目的の温度応答性高分子化合物を得ることができる。

【 0 0 3 5 】

本発明の高分子化合物の高分子鎖末端にカルボキシル基、水酸基、アミノ基、ニトリル基、炭素数 1 ～ 2 0 の直鎖もしくは分枝のアルキル基、シアノ基などの官能基を適宜導入してもよい。導入方法は従来公知の方法により実施することができる。このとき、必要に応じて連鎖移動剤や重合開始剤を用いることができる。例えば、メルカプトプロピオン酸、アミノエタントール、ブタントールなどの炭素数 1 ～ 2 0 の官能基を含む連鎖移動剤、アミノ基、カルボキシル基を有する重合開始剤が挙げられる。

【 0 0 3 6 】

本発明の高分子化合物は、例えばその末端に導入した反応性官能基を利用してシリカゲルあるいはポリマーゲルなどの担体表面に固定化することができる。または、シリカゲルあるいはポリマーゲルなどの固体表面に重合開始剤などを固定化した後に、かかる高分子化合物の原料となる 1 種類もしくは 2 種類以上の単量体を重合溶媒に溶解して、重合開始剤を固定化したシリカゲルあるいはポリマーゲルなどの担体存在下で加熱などにより重合を開始することで、かかる高分子化合物をシリカゲルポリマーゲルなどの担体表面に固定化することができる。この時、かかる高分子化合物を含むゲル構造体を得るために、2 官能性の単量体（架橋剤）を溶解しても良い。さらにこのとき、かかる高分子化合物の分子量を調整するためにあるいは反応性官能基を導入するために、連鎖移動剤を重合溶媒中に溶解させても良い。かかる高分子化合物を含む材料は各種の液体クロマトグラフ

イー担体、タンパク質、ペプチド、核酸をはじめとする生体成分および化学物質の分離・吸着・放出材料、生体機能材料に応用することができる。

【0037】

【実施例】

以下の実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、半発明はこれらの実施例によって何ら制限されるものではない。

【0038】

【実施例1】

N-メタクリロイル-N'-ベンゾイル-1,3-ジアミノプロパン(2.8mg)とN-アクリロイル-N'-4-ピペリジンカルボキシアミド(6.1mg)と2,2'-アソビス(2-アミジノプロパン)二塩酸塩(7mg)を水(1ml)に溶解させ、80℃でラジカル重合させ、共重合体を得た。この高分子を水に溶解させ温度変化による濁度変化を観察したところ、氷冷中では白濁し、90℃では溶解することから、UCSTを有する温度応答性高分子であることがわかった。また、この水溶液にグアニジン塩酸を加えることで、UCSTの性質は観察できなくなった。

【0039】

【実施例2】

N-メタクリロイル-N'-ヘキサノイル-1,3-ジアミノプロパン(4.7mg)とN-アクリロイル-N'-4-ピペリジンカルボキシアミド(20.1mg)と2,2'-アソビス(2-アミジノプロパン)二塩酸塩(4.8mg)を水(2.5ml)に溶解させ、80℃でラジカル重合させ、共重合体を得た。この高分子を水に溶解させ温度変化による濁度変化について観察したところ、氷冷中では溶解し、90℃の水溶液中では白濁することから、UCSTを有する温度応答性高分子であることがわかった。

【0040】

【実施例3】

4-ピペリジンカルボキシアミド(5.0mg)とトリエチルアミン(5.3ml)をジメチルホルムアミド(70ml)の反応溶液に、ジメチルホルムアミ

ド (20 ml) に溶解させたアクリル酸クロライド (3.2 ml) の混合溶液を氷冷中で3時間かけて、攪拌しながら滴下させた。滴下後、室温で1時間、攪拌を行い、濾過を行い、濾液を得た。この濾液をロータリーエバポレータにより脱溶媒し、その後に、アセトン溶液を加えて、シリカゲルカラムによりN-アクリロイル-4-ピペリジンカルボキシアミドを得た (1.4 g)。

【0041】

N-アクリロイル-4-ピペリジンカルボキシアミド (0.94 g) と2, 2'-アゾビス (4-シアノ吉草酸) (50 mg) をジメチルホルムアミド (6 ml) に溶解させ、70℃では重合させた後に、ジメチルスルホキシド (5 ml) を加えて、エタノール：ジエチルエーテル=1：4の混合溶媒中で再沈澱させ、これを濾過により回収し、真空乾燥させ、目的とするポリ (4-ピペチジンカルボキシアミド) (0.92 g) を得た。

【0042】

このポリマーを1wt%となるように、200 mM硫酸アンモニウム水溶液、300 mM硫酸アンモニウム水溶液、500 mM硫酸アンモニウム水溶液にそれぞれ溶かして、温度変化による濁度変化 (図1) 並びに昇温および降温での濁度変化の違い (図2) についてそれぞれ測定を行ったところ、硫酸アンモニウム水溶液中でUCSTを示すことが確認された。また、塩濃度の増加によりUCSTが高温側へ移ることが示された。このポリマー (0.9 g) をヒドロキシスクシンイミド (0.6 g) とジシクロヘキシルカルボジイミド (0.5 g) の存在下、ジメチルスルホキシド (10 ml) とジメチルホルムアミド (10 ml) の混合溶媒中でポリマー末端をヒドロキシスクシンイミド化し、アミノプロピルシリカゲル上に固定化した。元素分析の結果から13.1wt%の有機物含量の増加が確認された。このシリカゲルをステンレスカラム管に充填し、移動相を500 mM硫酸アンモニウム水溶液として、モデル生体成分としてインシュリンベータ鎖 (2 μg) をインジェクションしたところ、温度変化により溶出時間が異なることがわかった。

【0043】

【実施例4】

アクリルアミド (22 mmol)、3-アクリルアミドアセトアニリド (3.9 mmol)、3-メルカプトプロピオン酸 (0.3 mmol) および 2, 2'-アゾビス (4-シアノ吉草酸) (0.2 mmol) をジメチルホルムアミド (14 mL) に溶解し、70℃でラジカル重合させた。エーテルで再沈澱することで、ポリ (アクリルアミド-co-3-アクリルアミドアセトアニリド) を得た。

【0044】

この共重合体を 1 wt % となるように、水および 300 mM 塩化ナトリウム水溶液にそれぞれ溶解し、分光光度計を用いて、温度による透過率変化を 500 nm で観察した。その結果を図 1 に示す。水溶液中では、UCST が 25℃であったのに対し、300 mM 塩化ナトリウム水溶液では、UCST が 20℃と低下した。塩濃度が温度応答性を制御できることがわかった (図 3)。

【0045】

【発明の効果】

本発明によって、重合体の組成により水溶液中で UCST および LCST の 2 種類の発現を水溶液中で制御することができ、また、塩濃度もしくは分子量の違いによっても UCST もしくは LCST を発現させることができ、さらにはこれを制御できることがわかった。また、これとともに、水溶液系中での疎水性および水素結合性が制御できるので、本発明は温度応答性高分子を含む、物質の分離・吸着・放出などの開発に大きく貢献するものと考ええる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

ポリ (4-ピペリジンカルボキシアミド) が硫酸アンモニウム溶液中で温度応答性を発現した図である。

【図 2】

ポリ (4-ピペリジンカルボキシアミド) が硫酸アンモニウム溶液中で昇温及び降温時に温度応答性を発現した図である。

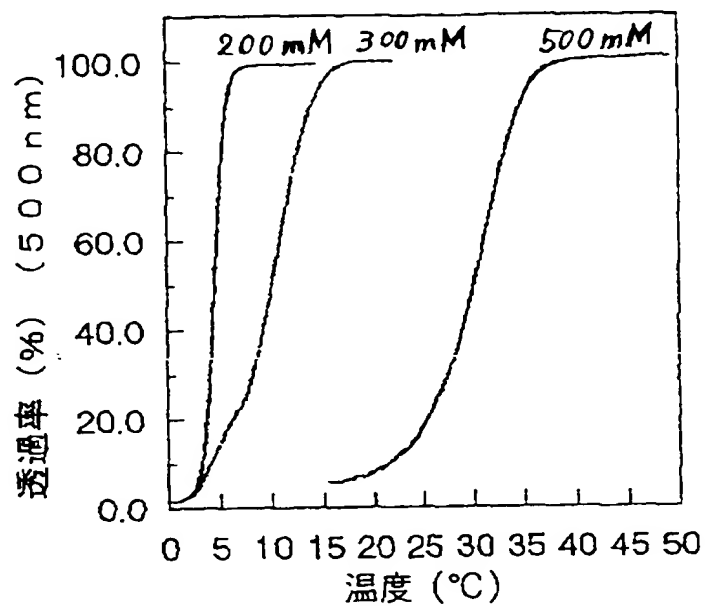
【図 3】

ポリ (アクリルアミド-co-3-アクリルアミドアセトアニリド) の温度応

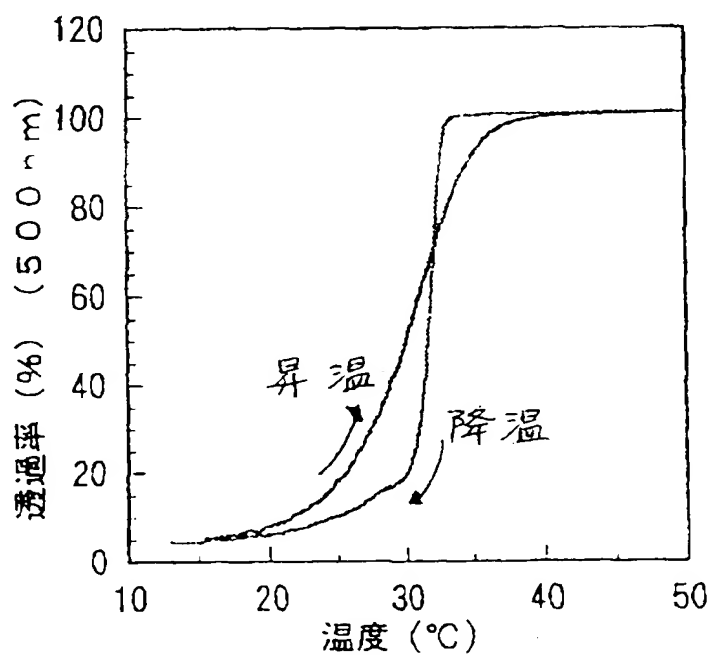
答性が塩濃度で制御できることを示した図である。

【書類名】 図面

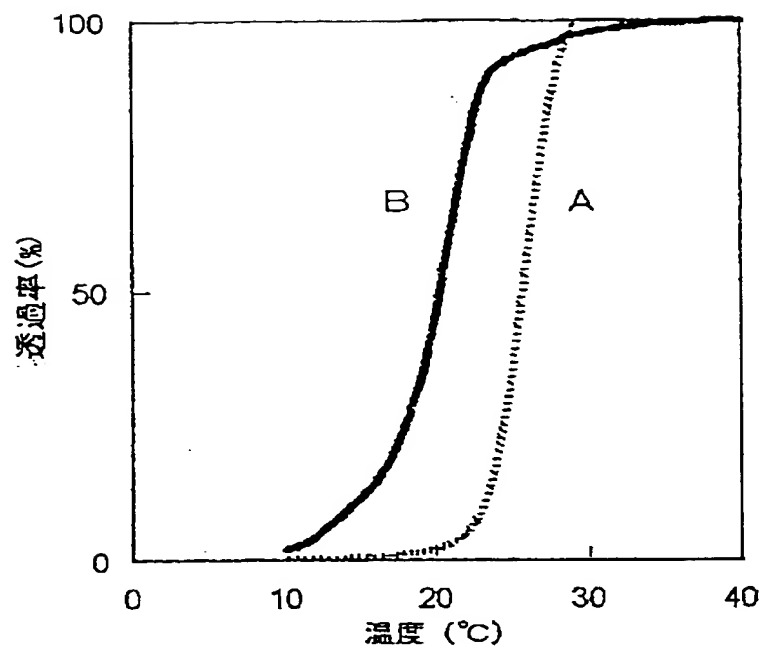
【図1】



【図2】



【図 3】



A : 水溶液

B : 300 mM 塩化ナトリウム水溶液

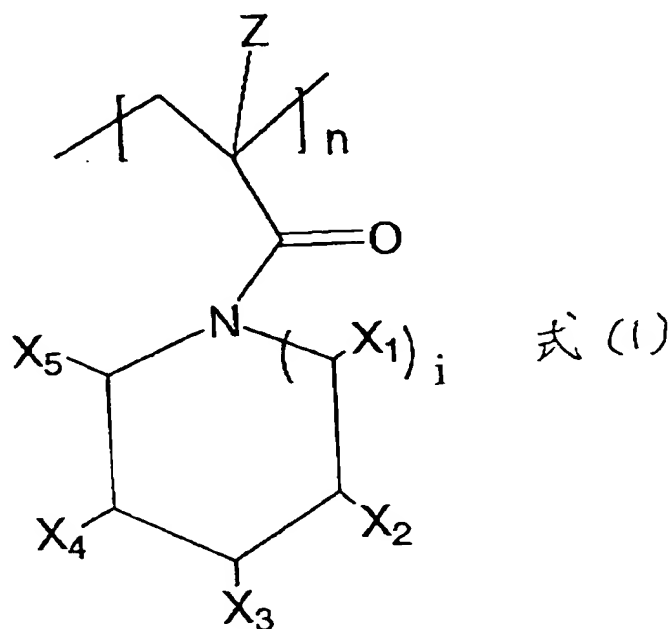
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 水素結合性および疎水性を利用し、生体成分をはじめとする物質と相互作用するような性質を有し、塩を含むような水溶液中でもLCSTあるいはUCSTを示すような材料を提供し、さらにはかかる高分子を用いたクロマトグラフィーなどの分離担体を始めとする、新規な分離、吸着、放出材を提供すること。

【解決手段】 例えば、下式

【化1】



(式中、Zはメチル基もしくは水素原子を示す。nは2以上の整数を示す。X₁、X₂、X₃、X₄、X₅は同一もしくは異なって、水素原子、基Rまたは基-CO-NH-Rを示し、X₁~X₅のうち最低1つは基-CO-NH-Rである(Rは炭素数1~6の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数1~10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数1~10の直鎖または分岐の脂肪族炭化水素基、一つ以上の水酸基を含む炭素数3~10の脂環式炭化水素基、一つ以上のアミド結合を含む炭素数3~10の脂環式炭化水素基あるいは水素原子を示す)。iは0~6のいずれかの整

数を示す。) で表される繰り返し単位を含む高分子化合物。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [597145779]

1. 変更年月日 1998年 4月10日

[変更理由] 住所変更

住 所 東京都新宿区百人町3丁目25番1号 サンケンビルディング
氏 名 アマシャム ファルマシア バイオテック株式会社

